

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-221425

(43)Date of publication of application : 26.08.1997

(51)Int.Cl.

A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/44  
 A61K 31/675  
 A61K 31/675  
 A61K 31/675  
 A61K 31/675  
 C07D213/64  
 C07F 9/58  
 C12N 9/99

(21)Application number : 08-052429

(71)Applicant : TAIHO YAKUHI KOGYO KK

(22)Date of filing : 13.02.1996

(72)Inventor : KATSUNUMA NOBUHIKO

## (54) THIOL PROTEASE INHIBITOR

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a thiol protease inhibitor containing a specific vitamin as an active component and useful as an agent for the treatment of osteoporosis and hypercalcemia, an antiallergic agent, etc.

**SOLUTION:** This agent contains a vitamin B6 as an active component. The vitamin B6 is especially preferably pyridoxal, pyridoxalphosphoric acid or pyridoxamine. The thiol protease inhibitor is useful as an agent for the treatment of muscular dystrophy, amyotrophy, myocardial infarction, cerebral apoplexy, Alzheimers disease, consciousness disorder and movement disorder in head injury, disseminated sclerosis, neuropathy of peripheral nerve, cataract, inflammation, allergy, fulminant hepatitis, breast carcinoma, prostatic carcinoma, prostatic hypertrophy, etc. It is also useful as an agent for suppressing the proliferation of cancer cell, preventing the metastasis of cancer, inhibiting the coagulation of platelet, etc. The administration rate of the active component is about 0.1-100mg/kg/day, preferably about 0.5-50mg/kg/day.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

08.11.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-221425

(43) 公開日 平成9年(1997) 8月26日

|                           |      |        |               |        |
|---------------------------|------|--------|---------------|--------|
| (51) Int.Cl. <sup>8</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I           | 技術表示箇所 |
| A 6 1 K 31/44             | ADG  |        | A 6 1 K 31/44 | ADG    |
|                           | AAB  |        |               | AAB    |
|                           | AAM  |        |               | AAM    |
|                           | ABF  |        |               | ABF    |
|                           | ABJ  |        |               | ABJ    |

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-52429

(22) 出願日 平成8年(1996) 2月13日

(71) 出願人 000207827

大鵬薬品工業株式会社

東京都千代田区神田錦町1-27

(72) 発明者 勝沼 信彦

徳島県徳島市名東町3丁目246-2

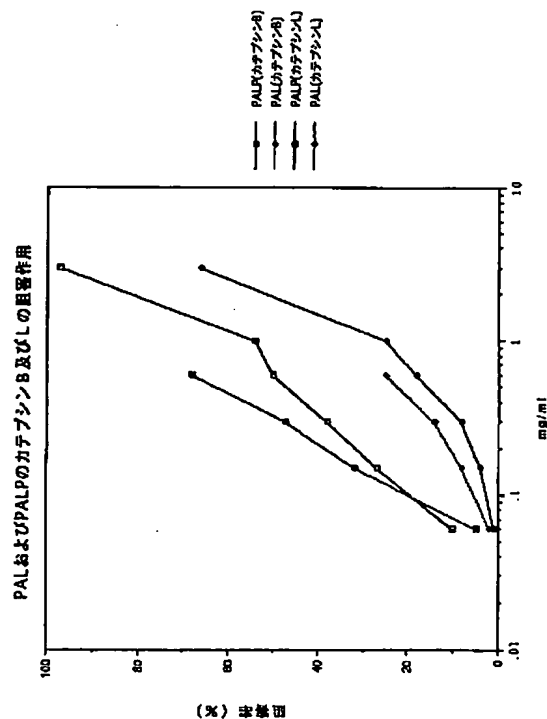
(74) 代理人 弁理士 田村 巖

(54) 【発明の名称】 チオールプロテアーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【課題】 筋ジストロフィー、筋萎縮症、心筋梗塞、脳卒中、アルツハイマー病、頭部外傷時の意識障害や運動障害、多発性硬化症、末梢神経のニューロパシー、白内障、炎症、アレルギー、劇症肝炎、骨粗鬆症、高カルシウム血症、乳癌、前立腺癌、前立腺肥大症等の治療薬として、あるいは癌の増殖抑制、転移予防薬、血小板の凝集阻害薬等として有用なチオールプロテアーゼ阻害剤を提供する。

【解決手段】 ビタミンB<sub>6</sub>を有効成分として含有するチオールプロテアーゼ阻害剤。



1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ビタミンB<sub>6</sub>を有効成分として含有するチオールプロテアーゼ阻害剤。

【請求項2】 ビタミンB<sub>6</sub>がピリドキサル、ピリドキサルリン酸またはピリドキサミンである請求項1記載のチオールプロテアーゼ阻害剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ビタミンB<sub>6</sub>を有効成分として含有するカテプシンL、カテプシンB等のチオールプロテアーゼ阻害剤に関するものであり、骨粗鬆症治療剤、高カルシウム血症治療剤および抗アレルギー剤等の医薬として有用である。

## 【0002】

【従来の技術】活性中心にチオール基を有する蛋白分解酵素はチオールプロテアーゼと総称されている。カテプシンL、カテプシンBは、カルシウム依存性中性プロテアーゼ(CAMP)、パパイン、フィシン、プロメリン、プロメラシ等とともに代表的なチオールプロテアーゼの一つである。そしてこれらチオールプロテアーゼに対して阻害作用を有する物質は、チオールプロテアーゼが関与するとされる疾患、例えば筋ジストロフィー、筋萎縮症、心筋梗塞、脳卒中、アルツハイマー病、頭部外傷時の意識障害や運動障害、多発性硬化症、末梢神経のニューロパシー、白内障、炎症、アレルギー、劇症肝炎、骨粗鬆症、高カルシウム血症、乳癌、前立腺癌、前立腺肥大症の治療薬として、あるいは癌の増殖抑制、転移予防薬、血小板の凝集阻害薬として期待される。また、近年に至り、勝沼等の研究によってカテプシンL、カテプシンBと骨粗鬆症乃至悪性腫瘍性高カルシウム血症の関係が解明され、それによって、とりわけカテプシンL阻害剤の骨粗鬆症治療剤乃至悪性腫瘍性高カルシウム血症治療剤としての医薬への適用が注目されつつある(勝沼信彦「BIO media」7(6)、1992、73-77他)。骨組織においては、骨芽細胞(osteoblast)による骨形成と、破骨細胞(osteoclast)による骨吸収が生涯を通じて行われており、成長期には骨形成が骨吸収を上回ることにより骨重量が増加し、一方老年期には逆に骨吸収が骨形成を上回るために骨重量が減少し、骨粗鬆症の発症となる。これら骨粗鬆症の原因としては様々なものがあるが、特に骨崩壊(骨吸収)を主原因の一つとして挙げることができる。これを更に2つの原因に分けると次のようになる。即ち、一つはカルシウムの吸収と沈着不全に起因するものであり、更に詳しくはカルシウムの供給量、転送、吸収、及び沈着が関係するものであり、ビタミンD誘導体、女性ホルモン(エストロゲン)等が関与していると考えられる。いま一つは、骨支持組織であるコラーゲンの分解促進を内容とするものであり、破骨細胞内リゾソームから分泌されるチオールプロテアーゼ群、中でも特にカテプシンL、カテ

2

プシンBによる骨コラーゲン分解が主たる原因である。破骨細胞内のリゾソームから分泌されたこれらカテプシンL及びBは骨組織中のコラーゲンの分解を促進し、それによって古い骨は溶解され、ヒドロキシプロリンとともにカルシウムが血中に遊離放出させられる。従って、カテプシンL及びBのコラーゲン分解能を阻害することによって過剰な骨崩壊を防止することが可能であり、ひいては骨粗鬆症の治療が可能となる。これら骨粗鬆症の治療剤としては、エストロゲン、タンパク同化ホルモン、カルシウム剤、ビタミンD、カルシトニン、あるいはビスホスホネート等が知られているが、本発明のごとき、カテプシンL阻害、カテプシンB阻害のいわゆるチオールプロテアーゼ阻害を作用機序とする骨粗鬆症治療剤は知られていない。

【0003】一方、高カルシウム血症は、血清中のカルシウム濃度が正常値以上となる代謝異常であり、腫瘍患者に多く見受けられる。これを放置した場合、患者の寿命は10日程度であると言われている。原因の多くは腫瘍の骨転移である。腫瘍が骨に転移すると、骨破壊が起こり、カルシウムが血中に放出される。このカルシウムは腎臓で処理されるが、骨破壊のスピードが腎臓の処理能力を上回ったとき、高カルシウム血症の発現となる。治療方法としては、フロセミドを併用した生理的食塩水の輸液を用いることにより腎臓からのカルシウム排泄を促進する方法や、骨粗鬆症治療薬であるカルシトニンを使用する方法等が知られている。即ち、骨吸収を抑制するがごとき骨粗鬆症治療薬は悪性腫瘍性高カルシウム血症の治療剤としても有効であるといえる。ビタミンB<sub>6</sub>は医薬としてはビタミンB<sub>6</sub>欠乏症の治療、ビタミンB<sub>6</sub>の欠乏または代謝障害が関与されると推定される疾患の治療に使用されているが、これらがチオールプロテアーゼ阻害作用を有する事はいまだ知られていない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は筋ジストロフィー、筋萎縮症、心筋梗塞、脳卒中、アルツハイマー病、頭部外傷時の意識障害や運動障害、多発性硬化症、末梢神経のニューロパシー、白内障、炎症、アレルギー、劇症肝炎、骨粗鬆症、高カルシウム血症、乳癌、前立腺癌、前立腺肥大症等の治療薬として、あるいは癌の増殖抑制、転移予防薬、血小板の凝集阻害薬等として有用なチオールプロテアーゼ阻害剤を提供することにある。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明はビタミンB<sub>6</sub>を有効成分として含有するチオールプロテアーゼ阻害剤に関する。本発明者はカテプシンL乃至カテプシンBと骨崩壊の関係に注目し鋭意研究を行った結果、ビタミンB<sub>6</sub>が優れたカテプシンL阻害活性、カテプシンB阻害活性を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

## 【0006】

【発明の実施の形態】ビタミンB<sub>6</sub>としてはピリドキシン(PIN)、ピリドキサル(PAL)、ピリドキサミン(PAM)およびその生体内誘導体であるピリドキシリン酸(PINP)、ピリドキサルリン酸(PALP)、ピリドキサミンリン酸(PAMP)が例示できる。PIN、PALおよびPAMは同一のキナーゼによりATP(アデノシン三リン酸)を受けるとそれぞれPINP、PALPおよびPAMPのビタミンB<sub>6</sub>の生体内誘導体に変換される。またPALPとPAMPはアミノ基転移酵素類により可逆的に変換される関係にある。

【0007】本発明のチオールプロテアーゼ阻害剤は経口、非経口的にヒトを含むほ乳動物に投与することができる。本発明製剤の投与単位形態は特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択でき、具体的には錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、貼付剤、点眼剤、点鼻剤等を例示できる。ここで用いられる製剤担体としては通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば充填剤、増量剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤等の希釈剤ないし賦形剤等を例示できる。

【0008】錠剤の形態に成形するに際しては、担体として例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤、水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドン等の結合剤、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖等の崩壊剤、白糖、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤、第4級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤、グリセリン、デンプン等の保湿剤、デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤等を使用できる。更に錠剤は必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠等とすることができる。

【0009】丸剤の形態に成形するに際しては、担体として例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤、アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤、ラミナラン、カンテン等の崩壊剤等を使用できる。カプセル剤はPALPを上記で例示した各種の担体と混合し、硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。坐剤の形態に成形するに際しては、担体と

して例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライド等を使用できる。注射剤として調製される場合、液剤、乳剤及び懸濁剤は殺菌され、且つ血液と等張であるのが好ましく、これらの形態に成形するに際しては、希釈剤として例えば水、乳酸水溶液、エチルアルコール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類等を使用でき

る。尚、この場合等張性の溶液を調製するに十分な量の食塩、ブドウ糖或いはグリセリンを医薬製剤中に含有せしめてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。軟膏剤、例えばペースト、クリーム及びゲルの形態に調製する際には、希釈剤として例えば白色ワセリン、パラフィン、グリセリン、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト等を使用できる。更に上記各製剤には必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等や他の医薬品を配合してもよい。本発明製剤中に含まれるビタミンB<sub>6</sub>の量は特に限定されず適宜選択すればよいが、いずれも通常製剤中1~70重量%程度とするのがよい。

【0010】本発明製剤の投与方法は特に限定されず、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、患者の症状の程度等に応じて決定される。例えば錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤は経口投与される。坐剤は直腸内投与される。注射剤は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じ単独で動脈内、筋肉内、皮内、皮下もしくは腹腔内投与される。軟膏剤は、皮膚、口腔内粘膜等に塗布される。本発明製剤の有効成分の投与量は、用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等により適宜選択できる。通常、本発明化合物を0.1~100mg/kg/日程度、好ましくは0.5~50mg/kg/日程度の範囲となる量を目安とするのがよい。これら本発明製剤は1日に1回又は2~4回程度に分けて投与することができる。

## 【0011】

【実施例】以下に薬理試験例および処方例を挙げ、本発明を一層明瞭なものとする。次に本発明化合物がチオールプロテアーゼを抑制し抗アレルギー作用を有する事を実証するため以下の試験を行った。

## 【0012】薬理試験1

カテプシンLおよびカテプシンBの阻害活性の測定  
カテプシンLは、勝沼らの方法[T. Towatarti, N. Katsunuma, et al. (1978), J. Biochem. 84, 659-671]でラット肝より完全精製したものを使用し、Z-Phe-Arg-MCAを基質として用いた。カテプシンBは、勝沼らの方法[T. Towatarti, N. Katsunuma, et al. (1978), Biochem. Biophys. Res. Commun. 83, 513-520]でラッ

ト肝より完全精製したものを使用し、Z-Arg-Arg-MCAを基質として用いた。カテプシンをdiluent (0.1% Brij 35) で希釈して0.3 U (0.1 Uとは37℃に於て1分間に1.0 nmolのMCAを放出する濃度) に調整した。この溶液500 mlに250 mlのアクチベーター/緩衝液 (340 mM 酢酸ナトリウム、60 mM 酢酸、4 mM EDTA・2ナトリウム塩、pH 5.5) を加え、30℃で1分間保温した後、所定濃度の検体溶液および20 mlの基質溶液を加えて10分間反応させた。1 mlの反応停止液 (100 mM モノクロロ酢酸ナトリウム、30 mM 酢酸ナトリウム、70 mM 酢酸、pH 4.3) にて反応を止め、蛍光測定機を用いて、遊離したアミノメチルクマリンの蛍光度を波長370 nmの励起で得

#### マウスの抗体産生に対するピリドキサルリン酸の作用

| 投 与       | 血清卵白アルブミン抗体 |            |
|-----------|-------------|------------|
|           | IgG1 (O.D.) | IgE (PCA価) |
| 生理食塩水     | 0.43        | 4          |
| ピリドキサルリン酸 | 0.18        | 2          |

又、免疫29日後の脾細胞を卵白アルブミン100 μg/mlの存在下に72時間培養し上清中のIL-4をELISAにて測定した結果を表2に示す。

#### 免疫マウス脾細胞からの抗原刺激によるIL-4産生に対するピリドキサルリン酸の作用

| 投 与       | IL-4産生 (pg/ml) |
|-----------|----------------|
| 生理食塩水     | 128            |
| ピリドキサルリン酸 | 56             |

【0016】表1から明らかなように血清卵白アルブミン、IgEおよびIgG抗体産生はピリドキサルリン酸100 mg/kgで明らかに抑制された。又、表2よりピリドキサルリン酸100 mg/kgを投与されたマウスではIL-4産生能が明らかに低下していた。これらの結果よりピリドキサルリン酸はアレルギーに対するIgEおよびIgG抗体産生を抑制すると共にリンパ球からのIL-4産生を抑制することによりI型アレルギー反応および付随したアレルギー性炎症に対する抑制効果を示すことがわかる。

#### 【0017】処方例1 錠剤

|              |        |
|--------------|--------|
| ピリドキサルリン酸    | 40 mg  |
| デンプン         | 100 mg |
| マグネシウムステアレート | 15 mg  |
| 乳 糖          | 45 mg  |
| 合 計          | 200 mg |

#### 処方例4 注射剤

られる波長460 nmの蛍光によって測定した。結果を図1に示す。

#### 【0013】薬理試験2

##### 抗アレルギー活性の測定

BALB/Cマウスに卵白アルブミン0.4 mgを百日咳菌とともに腹腔内注射して免疫した。ピリドキサルリン酸100 mg/kgおよび対照として生理食塩水を免疫直後に腹腔内投与し、免疫11日後、尾静脈より採血し血清卵白アルブミン、IgEおよびIgG抗体価をラットを用いた異種皮膚アナフィラキシー反応およびELISAにてそれぞれ測定した。結果を表1に示す。

#### 【0014】

##### 【表1】

#### 【0015】

##### 【表2】

上記配合割合で、常法に従い、1錠当たり200 mgの錠剤を調製した。

#### 処方例2 顆粒剤

|                   |         |
|-------------------|---------|
| ピリドキサミン           | 200 mg  |
| 乳 糖               | 340 mg  |
| コーンスターチ           | 450 mg  |
| ヒドロキシプロピルメチルセルロース | 10 mg   |
| 合 計               | 1000 mg |

上記配合割合で、常法に従い、顆粒剤を調製した。

#### 処方例3 カプセル剤

|              |        |
|--------------|--------|
| ピリドキサル       | 100 mg |
| 乳 糖          | 170 mg |
| 結晶セルロース      | 77 mg  |
| ステアリン酸マグネシウム | 3 mg   |
| 合 計          | 350 mg |

上記配合割合で、常法に従い、カプセル剤を調製した。

ピリドキサルリン酸  
注射用蒸留水

200mg  
適量

1アンプル当たり5ml

上記配合割合で、常法に従い、注射剤を調製した。

【0018】

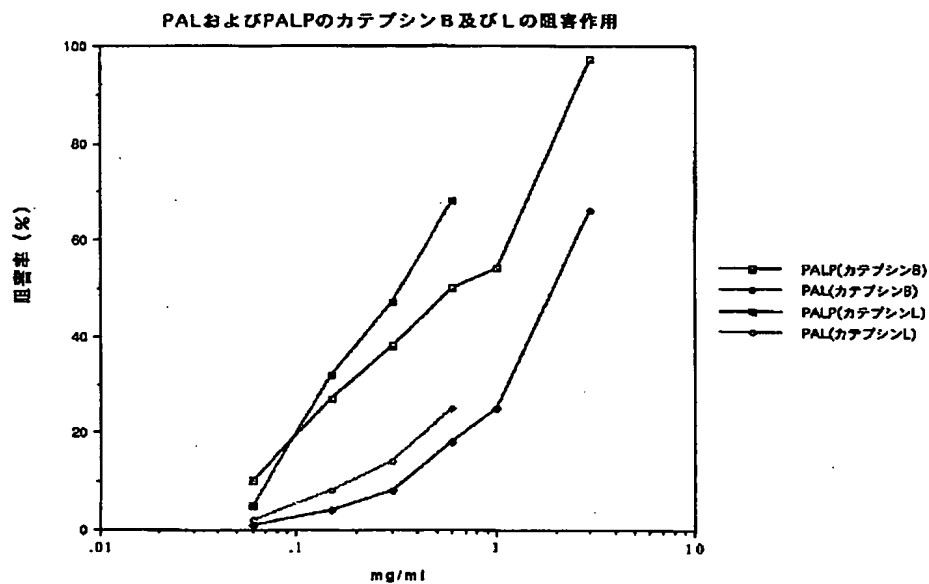
【発明の効果】本発明のビタミンB<sub>6</sub>を有効成分として含有するチオールプロテアーゼ阻害剤はカテプシンBおよびLのチオールプロテアーゼに対し阻害活性を有しており、筋ジストロフィー、筋萎縮症、心筋梗塞、脳卒中、アルツハイマー病、頭部外傷時の意識障害や運動障害、多発性硬化症、末梢神経のニューロパシー、白内

障、炎症、アレルギー、劇症肝炎、骨粗鬆症、高カルシウム血症、乳癌、前立腺癌、前立腺肥大症等の治療薬として、あるいは癌の増殖抑制、転移予防薬、血小板の凝集阻害薬等として用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 PAL及びPALPのカテプシンB及びLの阻害作用を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

A61K 31/44

識別記号

庁内整理番号

FI

A61K 31/44

技術表示箇所

ABL

ABL

ABR

ABR

ABS

ABS

ADD

ADD

AED

AED

31/675

ABE

31/675

ABE

ACS

ACS

ACV

ACV

ADU

ADU

C07D 213/64

C07D 213/64

C07F 9/58

C07F 9/58

C12N 9/99

C12N 9/99